

氏 名	ALI AKBAR MASOUDI
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学 術
学位授与番号	博甲第3487号
学位授与の日付	平成19年 9月30日
学位授与の要件	自然科学研究科生命分子科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	Molecular genetic study of Forelimb-girdle Muscular Anomaly in Japanese black cattle (黒毛和種牛の前肢帯筋異常症に関する分子遺伝学的研究)
論文審査委員	教授 国枝 哲夫 教授 佐藤 勝紀 教授 及川 卓郎

学位論文内容の要旨

Forelimb-girdle muscular anomaly (FMA) is an autosomal recessive hereditary disorder reported in Japanese black cattle. The affected calves show tremors and astasia at birth and an abnormal shape of shoulders. In gross pathological observation, the affected animals showed hypoplasia of forelimb-girdle muscles. To identify the gene responsible for this disorder, a linkage mapping of the disorder locus was performed using an inbred pedigree with 26 affected calves of Japanese black cattle. The animal of the inbred pedigree were genotyped for microsatellite markers distributed over the entire bovine chromosomes. Screening of linkages revealed that four markers on a middle region of bovine chromosome 26 showed significant linkage with the disorder locus. Next, haplotype analysis and homozygosity mapping was applied to further define the critical region of the disorder locus. The haplotypes of the affected and unaffected calves localized the locus responsible for FMA in a 2-Mb interval between *MOK2610* and *MOK2602* markers. Comparative mapping analysis identified several potential candidate genes for the disorder, including the *PDZD8*, *HSPA12A* and *LOC532603* genes, which are associated with the biological process of muscle or cytoskeleton development. Expression analysis of the candidate genes by semi-quantitative RT-PCR showed higher expression of the *LOC532603* in affected animal, but expression of the remaining genes showed no differences in affected animals. Cloning and sequencing of the candidate genes was also carried out to find any differences in the coding regions of these genes. The nucleotide sequence of these genes revealed many nucleotide substitutions but none of them was specific to the affected animals. Finally, the marker-assisted selection using four flanking markers was applied for identification of the carriers of this disorder. By genotyping of *DIK4440*, *BM4505*, *MOK2602*, and *IDVGA-59* markers in 37 unaffected offspring of a carrier sire, 9 of the 37 animals were identified as carriers. Therefore, the marker assisted selection using these markers will be useful for preventing the incidence of the disorder.

論文審査結果の要旨

本研究は、わが国の黒毛和種牛に発生する遺伝性疾患である前肢帯筋異常症について、その原因となる遺伝子を同定し、保因個体を特定するための遺伝子診断法を確立することを目的として、連鎖解析による本疾患原因遺伝子の染色体上での位置の特定、候補遺伝子の特定、候補遺伝子の解析、さらに連鎖マーカーを用いた保因個体の特定法の開発について試みたものである。その主な結果は以下の通りである。

発症個体を含む黒毛和種牛の家系を用いた全染色体を網羅する連鎖解析と、特定の領域のより詳細なハプロタイプ解析の結果、本疾患の原因遺伝子 FMA がウシ第 26 染色体近位端の約 2cM の領域に存在することを明かとした。この領域には骨格筋の発生や機能に関与する可能性ある遺伝子である *PDZD8*, *HSPA12A* および *LOC532603* 遺伝子が存在することから、これらの遺伝子の解析を行った。その結果、これらの遺伝子の塩基配列上に本疾患の原因と考えられる変異は存在していなかったために、いずれの遺伝子も本疾患の原因となる遺伝子ではないと結論づけられた。また、これらの遺伝子を含めて、当該領域に存在する遺伝子の発現を調べたところ、いずれも前肢帯筋に特異的に発現するものではないことが明らかとなった。最後に FMA と連鎖する 4 マーカーのハプロタイプを用いて、本疾患の保因個体を特定することを試みたところ、これらのマーカーを用いることで、効率よく保因個体を特定することが可能であることを明かとした。

以上の結果は、黒毛和種に発生する前肢帯筋異常症の予防のための効果的方法を開発するとともに、骨格筋の機能に関与する新規の遺伝子の同定を可能としたものであり、当該分野の研究に及ぼす影響は大きく、それゆえ、ALI AKBAR MASOUDI 氏は自然科学研究科の博士（学術）の学位を受ける資格があるものと判定した。